

지구성 운동이 본태성 고혈압 쥐 심장근의 eNOS, ET-1 mRNA와 골격근 eNOS 단백질 발현에 미치는 영향

송은영 · 조인호 · 조준용*

한국체육대학교 운동생화학실

Received November 7, 2007 / Accepted November 27, 2007

The Effects of Exercise Training on Cardiac eNOS, ET-1 mRNA and Skeletal Muscle eNOS Protein Level in SHR. Song, Eun-Young, Cho, In-Ho and Joon-Yong Cho*. *Korea National Sport University, Songpa, seoul 138-763* - In the present study, all of the treadmill exercise-trained SHR expressed clear adaptive changes such as reduced resting heart rate and blood pressures, LPOA, homocysteine. Therefore, treadmill exercise was sufficient to induce physiological adaptation in the SHR. Endurance training is known to induce physiological cardiac hypertrophy, while hypertension induces pathological cardiac hypertrophy that increases cardiomyocyte apoptosis. The pathological adaptation to pressure overload has also been associated with a further increase in the expression of several marker genes including cardiomyocyte ET-1 in the SHR, but not in the exercise-trained SHR. Additionally, there is an increase in the endothelial nitric oxide synthases (eNOS) protein expression of soleus, gastrocnemius, and extensor digitorum longus muscle in the exercise-trained SHR but not in the SHR in the present study. Thus, compared to pathological adaptation to pressure overload, physiological adaptation to exercise training is associated with distinct alterations in cardiac and molecular phenotypes. based on these results, exercise training improves hypertension by cardiovascular regulating genes and hemodynamic parameters.

Key words : SHR(Spontaneously hypertensive rat), treadmill exercise, eNOS, ET-1, pathological hypertrophy

서 론

고혈압은 병리학적 심근비대를 유발시키며 이차적으로 압력 과부하에 의한 좌심실 기능 저하, 세포사멸 유도 및 심근 세포 수가 감소된다[16]. 병리학적 심장비대의 진행 기전은 명확하게 밝혀지지 않았으나 심장근의 신호전달 관련 단백질과 유전자가 관여하며 최근에는 심혈관계 관련 분자 표현형으로 ET-1(endothelin-1)과 eNOS(endothelial nitric oxide synthase)가 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있다. 결과적으로 고혈압은 이러한 신호전달 단백질과 유전자의 발현에 따라 점진적인 병리학적 심근비대를 유발한다.

심근세포와 혈관내피세포들에서 생성되는 ET-1은 혈관수축작용이외에 심근수축촉진효과(inotropic)와 심박수 변동효과(chronotropic)를 가지고 있으며 심근세포의 비대를 유발한다[22,23,19,7,8]. 이중 혈관내피세포에서 ET-1의 생성은 체액성 요인들(안지오텐신 II와 아르기닌 바소프레신)과 기계적 요인(활용력과 내피세포 신전)들에 의해 증가된다고 보고되고 있다[6,20,24] 이와 같이 심장에서 ET-1의 생성은 신경체액성 요인들(humoral factors)과 기계적 요인들(mechanical factors)에 의해 조절된다. 특히 심장에서 ET-1의 생성은 병

리학적 조건에서 변화된다고 제시되고 있는데 심장에서 ET-1 생성이 만성 심부전을 가진 쥐에게서 현저하게 증가하였으며[17,18] 또한 운동에 의해서도 혈장 ET-1 수준이 증가하였다고 보고되었으나[13] 명확하게 심장에서 ET-1의 생성이 지구성 운동과 같은 신체적 스트레스에 의해 어떻게 변화되어지는지는 규명되지 않은 상태이다.

산화질소(NO)는 심근과 혈관내피세포를 포함해 대부분 인체조직에서 발현되며 혈관의 이완과 수축을 조절하여 혈류 및 말초혈관의 저항을 조절하는 신호전달물질로서 특히 운동 시 혈류역학과 대사적 조절인자로서 중요한 역할을 수행한다. 산화질소는 cytochrome P 450과 아주 유사한 산화질소합성효소(NOS)와 dioxygenase에 의해 L-아르기닌으로부터 생성되며 NOS 이성질체는 nNOS(neuronal), iNOS(inducible)와 eNOS(endothelia) 3종류가 있다. 이중 골격근(주로 지근섬유)에서 발현하는 eNOS는 인슐린의 주요 표적 조직인 골격근의 관류 자극과 당대사 및 인슐린 민감도를 조절하는 역할을 하며 혈관내피에서 생성되는 eNOS에 의한 산화질소 합성은 동맥압을 조절하여 고혈압에 긍정적인 영향을 미치는 반면 eNOS 결핍은 동맥 고혈압과 인슐린 저항성을 일으킨다[4,9].

운동은 심장근 혈관내피세포의 산화질소 시스템의 비정상적인 기능회복에 특이적인 효율성을 가지고 있으며 골격근의 산화질소 수준에도 영향을 미친다. 특히 골격근에서 발현하

*Corresponding author

Tel : +82-2-410-6867, Fax : +82-2-418-1877

E-mail : chojy@knsu.ac.kr

는 eNOS는 운동적응에 따라 그 발현량이 변화될 수 있는데 운동과 NOS와 관련한 선행연구로는 단시간 근 수축 운동시 골격근의 산화질소합성효소의 발현량과 산화질소량이 증가되었으며 장기간 운동 혹은 8주간 트레드밀 운동 후 골격근에서 eNOS와 nNOS 발현량이 증가되었다고 보고하였다[3,22]. 이와함께 운동은 심장의 기계적 부하(mechanical load)를 증가시켜 생리학적 근비대 효과를 가져오며 이는 고혈압에 의한 병리적 심근비대 효과기전과는 많은 차이를 보인다.

최근에는 운동을 통한 고혈압 예방 및 치료효과에 관한 연구가 많이 이루어지고 있으며, 특히 생리학적 또는 병리학적 심장비대와 관련된 분자수준에서의 발생기전을 규명하기 위해 많은 관심을 가지고 있으나 그 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 장기간 규칙적인 지구성 운동이 고혈압에 의한 병리학적 심장비대 발생 효과기전을 개선시킬 수 있는지 분자표현형 수준에서 규명하기 위해 본태성 고혈압 쥐를 이용하여 장기간 규칙적인 저강도 트레드밀 운동을 실시한 후 안정시 심박수, 혈압, 혈액학 변인(hemodynamic parameter)과 심장근과 골격근의 eNOS, ET-1 mRNA 및 골격근의 eNOS 단백질 발현수준의 차이를 보고자 한다.

연구방법

실험동물

이 연구에서 활용한 실험모델동물은 미국 Charles River (Charles River Laboratories, Wilmington, Massachusetts, USA)회사로부터 구입한 체중이 100 g~115 g인 6주령 된 수컷 본태성 고혈압 쥐(SHR, n=14)와 Wister-Kyoto 쥐(WKY, n=7)로 Wister-Kyoto 쥐를 정상혈압 집단으로 두고 본태성 고혈압 쥐 14마리를 각각 비교집단(n=7)과 운동집단(n=7)에 무선 배정하였다. 실험동물의 사육은 1964년 *Guiding Principles for the care and Use of Animal*에 따라 12시간 간격으로 명암을 유지시켰으며 사육장의 실내온도는 22°C~24°C로 하고 상대 습도는 40%~60%로 유지하였다. 실험동물 사육기간 동안 고형 쥐 사료와 함께 수돗물만 공급하고 케이지 마다 2마리씩 분산시켜 사육하였다[1].

운동 프로그램

Rodent 트레드밀 (Myung-Jin Co, Korea) 을 활용하여 트레드밀 런닝의 사전 적응훈련(18 m/min)을 7일간 10분 동안 수행시켰으며, 본 운동에서는 Arakawa가 제시한 트레드밀 운동방법을 수정하여 12주 동안 주 5일, 1일 60분씩 0% 경사도에서 20 m/min 속도로 훈련시켰다[2].

측정항목 및 분석방법

혈압측정

수축기 혈압과 확장기 혈압은 tail-cuff pulse detection

system(Muromachi MK-1000 model, Muromachi Kikai CO. LTD, Tokyo, Japan)을 활용하여 주 1회 오전 10시와 오후 2시 사이 동일한 날짜와 시간대에 acrylic holder를 이용하여 실험모델동물들의 몸통을 고정시킨 후 28°C 온도에서 30분 동안 안정을 취하게 한 후 측정하였다.

심장근과 골격근 적출

12주간 운동을 수행한 후 pentobarbital Sodium(50 mg/kg)을 복강 내 주입시켜 마취시킨 후 심장근과 양쪽 하퇴에서 가자미근, 비복근, 장지신근을 분리하였다. 조직(0.5 g)은 샘플 부피의 5배 정도의 lysis buffer [50 mM tris pH8.0, 150 mM NaCl, 0.02% Sodium azide, 0.2% SDS, 1% Igepal CA 630, 0.5% (100 mM) NaF, 0.5% Sodium deoxycholate, 0.5M EDTA, pH 8.0, 0.1 mM EGTA, Protease inhibitor cocktail tablet]와 함께 얼음에 넣고 균질화 (homegenizer, PYREX Corning, USA) 시킨 후 15,000 rpm으로 10분간, 4°C에서 원심분리 (Model: Mega 17R, Small high speed refrigerated centrifuge, Han-Nil Science) 하여 상층을 분리하였다. 총 단백질량은 BSA (bovine serum albumin, 570 nm) 를 이용하여 Bradford (1976)의 방법으로 정량하였으며 적출된 조직은 -80°C에서 냉동 보관하였다.

RNA 분리 및 확인

심장근으로부터 RNA를 분리하기 위해 조직을 떼어 100 mg으로 무게를 측정 후 액화질소에 넣은 후 RNAzol B 500 µl가 든 35 mm 접시에 조직을 넣어 잘게 분쇄시킨다. 그 다음 homogenizer에 RNAzol B 1.8 ml을 넣고 조직을 마쇄한 후 1.5 ml 튜브에 1 ml씩 분주한다. 각 튜브에 100 µl의 chloroform을 넣고 잘 흔들어 주었다. 그리고 5분 동안 얼음에 정치시켜 단백질을 제거하였다. 샘플을 15,000 rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 RNA를 분리한 후 RNA가 포함된 층을 새 튜브에 옮겨 isopropanol을 첨가한 다음 얼음에서 15분 동안 정치시켰다. 침전된 RNA를 수집하기 위해 4°C, 15000 rpm에서 15분 동안 원심 분리하였다. 상층액을 제거하고 75%에탄올로 침전된 RNA를 세척하여 4°C, 10,000 rpm에서 8분 동안 원심 분리하였다. 에탄올을 제거한 후 진공 상태에서 10분 동안 RNA를 건조시켰다. 분리된 RNA는 DEPC 처리된 물로 녹여서 각각 260 nm에서 흡광도 측정을 위하여 정량하였다. 정량된 RNA를 확인하기 위하여 0.5 µg의 RNA를 1%의 agarose gel에 전기영동한 후 18s와 28s의 rRNA 밴드를 확인하였다.

역전사 효소반응

분리된 RNA 1 µg을 DEPC 처리된 증류수와 oligo(dT)primer를 첨가하여 RNA 혼합액으로 제조하였다. RNA 혼합액을 70°C에서 10분 동안 Poly-A annealing하였다. 증폭을 위한 주형으로 사용될 cDNA는 1×first strand buffer[50 mM Tris-HCL (pH 8.3), 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂], 10 mM di-

thiosphate dNTP)]와 Super Script II RNaseH-Reverse Transcriptase 200units를 넣어 42°C에서 50분 동안 합성하였고 90°C에서 5분 동안 열처리하여 반응을 종결하였다. eNOS와 ET-1을 조사하기 위해 RT product와 함께 eNOS mRNA (5' primer : 669-688 base, 3' primer : 829-848 base, AJ_249546), ET-1 mRNA(5' primer : 224-243 base, 3' primer : 667-710 base, NM_01254)를 활용하였다. PCR 기계 (Flexigene, Techne, USA) 에서 28 cycles로 eNOS mRNA를 위해서는 94°C 3분(predenaturation), 94°C 15초(denaturation), 53°C 15초(annealing), 72°C 30초(elongation), 72°C 7분(post- elongation) 간 합성하였다. ET-1 mRNA를 위해서는 94°C 3분(predenaturation), 94°C 30초(denaturation), 70°C 15초(annealing), 72°C 45초(elongation), 72°C 7분(post-elongation)간 합성하였다. 동일한 양의 전체 RNA를 확인하기 위하여 β -actin primer(sense: 5'-GAA-GAT-CCT-GAC-CGA-GCG-TG-3'; anti-sense: 5'-CGT-ACT-CCT-GCT-TGC-TGA-TCC-3') 를 사용하였다.

SDS-PAGE

8%~10% separating gel(30% acrylamide: bisacrylamide, 1.5M tris pH8.8, 10% SDS, TEMED, 10% ammonium persulfate)과 5% stacking gel (30% acrylamide: bisacrylamide, 1.5M tris pH6.8, 10% SDS, TEMED, 10% ammonium persulfate)을 만들어 사용하였고, 원심분리(15,000 rpm, 20 min)한 상층액과 SDS loading buffer(60 mM tris pH6.8, 25% glycerol, 2% SDS, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% Bromophenol Blue)를 잘 혼합한 후 100°C에서 10분간 끓여 단백질을 변성시켰다. 이를 식힌 다음 15,000 rpm으로 20분간 4°C에서 원심분리하고 standard marker(SDS-PAGE Molecular Weight Standards, BioRad)와 함께 각 샘플을 Mini-Protein II dual-slab apparatus(Bio-Rad)에 분주된 stacking gel well에 같은 총 단백질량이 200 μ g이 되도록 분주한후 80volt에서 2시간 정도 샘플이 바닥에 닿을 때까지 전기 영동하였다.

Western Blot and Image Analysis

Transfer buffer (190 mM glycine, 50 mM Tris-base, 0.05% SDS, 20% methanol)에 적신 PVDF membrane (Millipore), Whatman 3M paper, 전기영동한 젤, ECL membrane (Amersham), Whatman 3M paper, PVDF membrane (Millipore)을 차례로 겹쳐 Mini trans-blot module(Bio Rad)에 장치한 후 40 volt로 2시간 전사하였다. Membrane으로 증착이 끝나면 rocker platform위에서 1시간 동안 membrane을 3% skim milk 용액(in TNT: 10 mM Tris-base pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.05% Tween-20)으로 blocking시켰다. 1차 항체(rabbit polyclonal anti -eNOS, sc-653, Santacruz, Biotech, USA)를 5% skim milk 용액으로 1:500으로 희석시켜 90분 동안 흔들어 주고 난 다음 TNT 용액으로 10분씩 3

회 세척하였다. 그 후 2차 항체(horse-radish peroxidase-conjugated anti- rabbit antibody for eNOS)를 5% skim milk 용액으로 1:1000으로 희석시켜 60분 동안 흔들어 준 후 TNT 용액으로 10분씩 3회 세척하였다. 마지막 단계로 ECL substrate 용액(Santacruz, Biotech, USA)에 membrane을 넣고 5분간 발색시켰다. 얻어진 membrane을 densitometer(Sharp jx-330)를 이용하여 스캔 후 이미지 분석 프로그램(Image Master ver.3.0, Biotech Pharmacia)을 통해 eNOS 단백질량을 산출하였다. 총 단백질량은 BSA (bovine serum albumin, 570 nm)을 이용하여 Bradford(1976)의 방법으로 정량하였다.

자료처리

이 연구 결과 얻어진 자료를 SPSS/PC+Version 11.0 통계 프로그램을 사용하여 하위그룹 각각의 기술 통계치(mean, SD)를 산출하였다. 집단 간 차이를 알아보기 위해 일원변량 분석(one-way ANOVA)를 이용하여 분석하였고 사후검증은 SNK(Student Newman-Keul)를 적용하였다. 가설의 수락 기준은 $\alpha=0.05$ 로 설정하였다.

결 과

체중, 심장 무게, 심박수 및 혈압의 변화

<Table 1>에서 보는 바와 같이, 체중 및 심장의 무게를 변량 분석한 결과 집단 간에 차이가 없는 것으로 나타났다. 심박수의 경우 변량 분석한 결과 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과 비교집단인 WKY와 SHR 간에 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 SHR 운동집단과 WKY 비교집단 간에도 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났고, SHR 운동집단과 SHR 비교집단 간에도 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. <Table 1>에서 보는 바와 같이, 수축기 이완기 혈압을 살펴보면, 수축기 혈압의 경우 변량 분석한 결과 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과 SHR 비교집단과 WKY 비교집단 간에 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 SHR 운동집단과 WKY 비교집단 간에도 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 그리고 SHR 비교집단과 SHR 운동집단 간에도 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

<Fig. 1>에서 보는 바와 같이, LPOA와 호모시스테인 수준을 살펴보면, LPOA와 호모시스테인 각각 변량 분석한 결과 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과 SHR 비교집단과 WKY 비교집단간에도 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 SHR 운동집단과 WKY 비교집단간에도 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 그리고 SHR 비교집단과 SHR 운동집단간에도 $p<0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

Table 1. the effect of 12week exercise training on body weight, cardiac weight, heart rate and blood pressure in WKY, SHR and SHR-EX group.

변인	집단	WKY (n=7)	SHR-C (n=7)	SHR-EX (n=7)
체중(g)		305.42±37.41	297.10±91.30	312.83±12.51
심장무게(g)		1.33±0.17	1.72±0.25	1.39±0.09
심박수(beats/min)		304.18±31.67	348.91±42.79*	328.67±22.52†
수축기혈압(mmHg)		139.73±13.95	209.73±11.10*	190.58±30.36†
이완기혈압(mmHg)		73.73±9.370	136.70±15.56*	98.25±28.25†

Values are means±SD : *significantly different from WKY; †significantly different from SHR-C

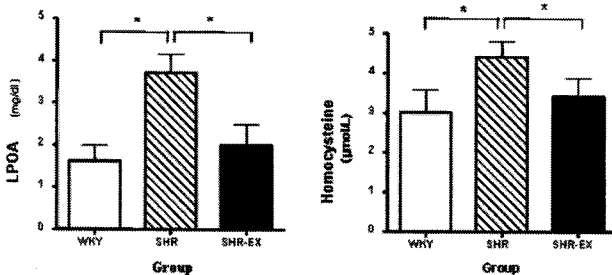


Fig 1. The effect of treadmill exercise on LPOA and Homocysteine level in WKY, SHR and SHR-EX. Data are expressed as mean±SD. *p<.05; significantly different among groups.

심장근의 eNOS와 ET-1 mRNA 발현량

<Fig. 2>에서 보는 바와 같이, 집단별 심장근의 ET-1 mRNA의 발현량을 변량분석 결과, 집단간에 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과, WKY 비교집단과 SHR 비교집단과 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며, WKY 비교집단과 SHR 운동집단과 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 SHR 비교집단과 SHR 운동집단간에도 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

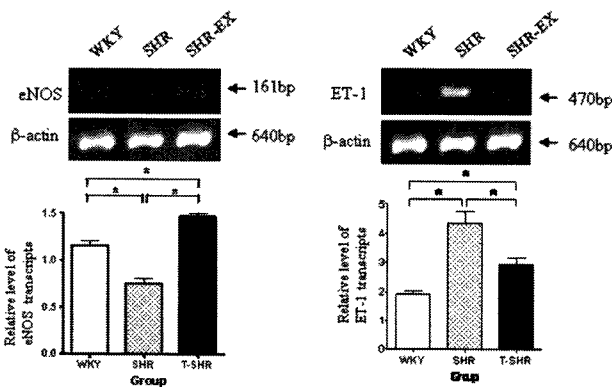


Fig 2. The effect of treadmill exercise on eNOS mRNA and ET-1 mRNA in the heart(left ventricle) in WKY, SHR, and SHR-EX. Data are expressed as mean±SD. *p<.05; significantly different among groups.

골격근 형태별 eNOS 단백질 발현량

<Fig. 3>에서 보는 바와 같이, 골격근 형태별 eNOS 단백질 발현량을 변량분석 결과, 가자미근과 비복근의 경우 집단간에 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과, 비교집단인 WKY와 SHR간에는 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 그리고 WKY 비교집단과 SHR 운동집단에는 p<.05수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 SHR 비교집단과 SHR 운동집단 간에도 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 한편 <Fig. 3>에서 보는바와 같이 골격근 형태별 eNOS 단백질 발현량을 변량분석 결과, 장지신근의 경우 집단간에 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타나 사후검증한 결과, 비교집단인 WKY와 SHR간에는 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 WKY 비교집단과 SHR 운동집단에도 p<.05 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

고 찰

본 연구의 주요한 결과는 장기간의 저 강도 트레드밀 운동이 본태성 고혈압 쥐의 안정성 심박수, 수축기와 이완기 혈압 감소는 물론 고혈압에 의한 병리학적 심근비대에 관여하는 조절인자인 심근의 ET-1 감소 및 eNOS mRNA와 골격근의 eNOS 발현이 증가되었다는 것이다.

고혈압 혹은 심혈관계 질환은 압력과부하에 의한 병리학

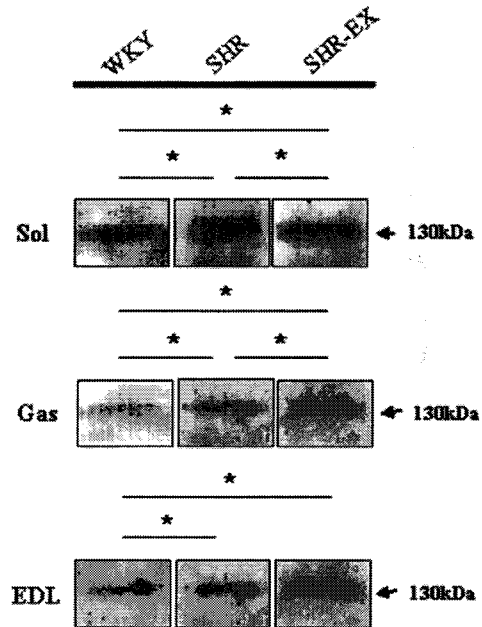


Fig. 3. The effect of treadmill exercise on the relative level of eNOS protein express in soleus(sol), gastrocnemius (Gas), and extensor digitorum longus(EDL) muscle in WKY, SHR, and SHR-EX. Data are expressed as mean±SD. *p<.05; significantly different among groups.

적 심근비대를 유발하게 된다. 이러한 현상은 심장의 증가된 운동부하에 보상적 적응현상으로 설명되며 특히 병리학적 심장비대는 좌심실의 기능을 저하시키고 지속적으로 진행되면 심부전으로 발전하게 된다[15].

이와는 달리 운동에 의한 심근비대는 안정 시 심박수 감소 및 좌심실 정맥 회귀혈과 이완말기혈액량 증가 등 심혈관계의 유익한 적응현상을 가져온다. 운동에 의한 좌심실 비대 현상을 생리학적 심근비대라 하며 반복적인 운동에 의한 심혈관계의 기계적 요구에 의한 것으로 보고되고 있으나 자세한 발생기전은 명확히 규명되진 않았다.

최근에는 생리학적 또는 병리학적 심근비대에 따른 심장 기능은 차이가 있으며 그 관련 기전을 구명하고자 하는 연구가 많이 이루어지고 있는 실정이다. 심근비대에 관여하는 다양한 심혈관조절인자 중에서 Angiotensin (ANG) -II와 같은 체액성 심혈관계 조절인자가 GTP-결합(Gq)단백질과 mitogen-activated protein kinase(MAPK)을 활성화 하여 심근 비대 현상을 가져오며[5,15] 이때 ANG-II의 발현은 ET-1에 의해 조절된다[19].

ET-1은 심근경색에 의한 충혈성 심부전증상을 가진 쥐의 심장에서 높게 발현된다[17]. 이 연구에서도 SHR 비교집단에 있어서 심장근의 ET-1 mRNA 수준이 WKY 집단과 SHR 운동집단에 비해 높게 나타났다. 즉 12주간의 트레드밀 훈련이 본태성 고혈압의 심장근내 ET-1유전자 수준을 감소시키는 효과를 보여준 것으로 이는 15주간 점진적으로 수영운동을 실시한 후 본태성 고혈압 쥐의 심근 조직에서의 ET-1mRNA 수준을 구명한 연구와 일치한 결과를 나타내었다[14]. 이러한 결과도 병리적 또는 생리적 심근비대에 관여하는 유전자의 발현은 차이가 있다는 것을 의미한다고 볼 수 있다.

한편 산화질소(NO)는 심근과 혈관내피세포를 포함해 대부분 인체조직에서 발현되며 혈관의 이완과 수축을 조절하여 혈류 및 말초혈관의 저항을 조절하는 신호전달물질이다 [9]. 특히 NOS 이성질체 중 골격근과 혈관내피에서 주로 생성되는 eNOS는 산화질소를 합성하여 동맥압을 조절하여 고혈압에 긍정적인 영향을 미친다[10,22]. 특히 운동은 심근의 혈관내피세포의 산화질소 시스템의 비정상적인 기능회복에 특이적인 효율성을 가지고 있으며 흥미로운 것은 골격근에서 발현하는 eNOS는 운동적응에 따라 그 발현량이 변화될 수 있는데 특히 eNOS 발현은 Type II 섬유보다는 Type I 섬유에 보다 높게 발현된다.

이 연구에서는 SHR 운동집단의 심근 eNOS mRNA 수준과 가자미근과 비복근의 eNOS 단백질 수준이 다른 두 집단에 비교했을 때 유의한 수준에서 높게 나타났다. 장지신근의 eNOS 단백질 수준은 SHR 운동집단과 WKY집단과 유의한 차이를 보여 eNOS의 발현이 골격근 형태별로 차이를 나타낸다는 선행연구 결과와 일치하는 결과를 얻었다. 이러한 결과들은 운동에 의한 혈류량 증가 및 골격근과 심혈관계의

NOS up-regulation을 통한 혈관확장 및 혈관내피성장요인 (Vascular endothelial growth factor; VEGF)의 분비 증가는 eNOS를 활성화시켜 NO의 생성을 증가에 기인한다고 볼 수 있다[3,22]. 이 연구에서 심장근 뿐만 아니라 골격근에서의 eNOS 단백질의 발현증가 현상은 고혈압 개선효과에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 생각된다.

한편 이러한 결과들과 함께 본 연구에서 규칙적인 운동은 본태성 고혈압 쥐의 hemodynamic factors의 개선효과를 가져왔다. 이는 운동과 혈압개선 효과에 관한 선행연구들과 일치하는 것으로 [11,12,19] 운동을 통한 혈액량, 신장기능, 부신피질호르몬, 신경성 조절 등의 다양한 기전들이 상호 복합적으로 관여한 것으로 보여 진다.

결론적으로 12주간의 규칙적인 저장도 트레드밀 운동은 본태성 고혈압 쥐의 안정 시 심박수, 수축기·이완기 혈압감소, hemodynamic parameter의 개선, 그리고 심장근과 골격근 형태별 eNOS의 발현 증가 및 병리학적 심근비대에 관여하는 ET-1 유전자 발현을 감소시켜 고혈압 개선에 효과적으로 작용하는 것으로 나타났다.

요 약

12주간의 저장도 트레드밀 운동은 본태성 고혈압 쥐의 안정 시 심박수와 혈압, LPO와 호모시스테인 수준의 개선과 함께 심장근의 eNOS mRNA 및 골격근의 sNOS 단백질 발현량을 증가시킨 반면 심근의 ET-1 mRNA 수준을 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 결국 운동이 혈압조절 뿐만 아니라 고혈압에 의한 심근비대현상 관련 유전자들의 기능개선을 가져와 고혈압을 개선시키는 작용을 한 다는 것을 확인 할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. American Physiological Society Operational Guide Revision. 2002. Guiding Principles for the Care and Use of Animal in the Recommendations for the Declaration of Helsinki 1964. *American Physiology Society*.
2. Arakawa, K. 1997. Humoral factors as mediators of anti-hypertensive effect of exercise training: an update. *Blood Press Monit.* **2(5)**, 237-239.
3. Balon, T. W. and J. L. Nadler. 1997. Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* **82**, 359-363.
4. Bradford, M. M. 1976. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **7(72)**, 248-254.
5. Dorn, G. W and J. H. Brown, 1999. Gq signaling in cardiac adaptation and maladaptation. *Trends Cardiovasc. Med.* **9**, 26-34.

6. Emori, T., Y. Hirata, K. Ohta, M. Shichiri and P. Marumo. 1989. Secretory mechanism of immunoreactive endothelin in cultured bovine endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **160**, 93-100.
7. Ishikawa, T., M. Yanagisawa, S. Kimura, K. Goto and T. Masaki. 1988. Positive inotropic action of novel vasoconstrictor peptide endothelin on guinea pig atria. *Am. J. Physiol.* **255** (Heart Circ. Physiol. 24), H970-H973.
8. Ishikawa, T., M. Yanagisawa, S. Kimura, K. Goto and T. Masaki. 1988. Positive chronotropic effects of endothelin, a novel endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Pflügers Arch.* **413**, 108-110.
9. Kobzik, L., M. B. Reid, D. S. Bredt and J. S. Stamler. 1994. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature* **372**, 546-548.
10. Kobzik, L., B. Stringer, J. L. Balligand, M. B. Reid and J. S. Stamler. 1995. Endothelial type nitric oxide synthase in skeletal muscle fibers: mitochondrial relationships. *Biochemical and Biophysical Research Communication* **211**, 375-381.
11. Kojima, M., I. Shiojima, T. Yamazaki, I. Komuro, Y. Zou, Y. Wang, T. Mizuno, K. Ueki, K. Tobe, T. Kadowaki, R. Nagai and Y. Yazaki. 1994. Angiotensin II receptor antagonist TCV-116 induces regression of hypertensive left ventricular hypertrophy in vivo and inhibits the intracellular signaling pathway of stretch mediated cardiomyocyte hypertrophy in vitro. *Circulation* **89**, 2204-2211.
12. Koller, A., A. Huang, D. Sun and G. Kaley. 1995. Exercise training augments flow-dependent dilation in rat skeletal muscle arterioles. Role of endothelial nitric oxide and prostaglandins. *Circulation Research* **76**, 544-550.
13. Maeda, S., T. Miyauchi, K. Goto and M. Matsuda. 1994. Alteration of plasma endothelin-1 by exercise at intensities lower and higher than ventilatory threshold. *J. Appl. Physiol.* **77**, 1399-1402.
14. Motoyuki, I., T. Miyauchi, S. Maeda, S. Sakai, T. Kobayashi, N. Fujii, H. Miyazaki, M. Matsuda and I. Yamaguchi. 2001. Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotype in the rat. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp. Physiol* **281**, 2029-2036.
15. Reddy, D. S. 1997. Cellular and molecular biology of cardiac hypertrophy: *Curr Sci*, **72**, 13-30.
16. Richey, P. A. and S. P. Brown. 1998. Pathological versus physiological left ventricular hypertrophy; a review. *Journal of Sport Science* **16**(2), 129-141.
17. Sakai, S., T. Miyauchi, M. Kobayashi, I. Yamaguchi, K. Goto and Y. Sugishita. 1996. Inhibition of myocardial endothelin pathway improve long-term survival in heart failure. *Nature* **384**, 353-355.
18. Sakai, S., T. Miyauchi, T. Sakurai, Y. Kasuya, M. Ihara, I. Yamaguchi, K. Goto and Y. Sugishita. 1996. Endogenous endothelin-1 participates in the maintenance of cardiac function in rats with congestive heart failure. Marked increase in endothelin-1 production in the failing heart. *Circulation* **93**, 1214-1222.
19. Shubeita, H. E., P. M. McDough, A. N. Harris, K. U. Knowlton, C. C. Glembotski, J. H. Brown and K. R. Chien. 1990. Endothelin induction of inositol phospholipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac expression in ventricular myocytes: a paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy. *J. Biol. Chem.* **265**, 20555-20562.
20. Sumpio, B. E. and M. D. Widmann. 1990. Enhanced production of endothelium-derived contracting factor by endothelial cells subjected to pulsatile stretch. *Surgery* **108**, 277-281.
21. Suzuki, T., T. Tumazaki and Y. Mitsui. 1993. Endothelin-1 is produced and secreted by neonatal rat cardiac myocytes in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **193**, 823-830.
22. Tatchum-Talom, R., R. Schulz, J. R. McNeill and F. H. Khadour. 2000. Upregulation of neuronal nitric oxide synthase in skeletal muscle by swim training. *American Journal of Physiology on Heart and Circulation Physiology* **279**, H1757-H1766.
23. Yanagisawa, M., H. Kurihara, S. Kimura, Y. Tomobe, M. Kobayashi, Y. Mitsui, Y. Yazaki, K. Goto, and T. Masaki. 1988. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **332**, 411-415.
24. Yoshizumi, M., H. Kurihara, T. Sugiyama, F. Takaku, M. Yanagisawa, T. Masaki and Y. Yazaki. 1989. Hemodynamic shear stress stimulates endothelin production by cultured endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **161**, 859-864.